

538, 081

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
24. Juni 2004 (24.06.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2004/053558 A1(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: G02B 21/00,  
21/06

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/005991

(22) Internationales Anmeldedatum:  
6. Juni 2003 (06.06.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
102 57 423.5 9. Dezember 2002 (09.12.2002) DE(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): EUROPÄISCHES LABORATORIUM FÜR  
MOLEKULARBIOLOGIE (EMBL) [DE/DE]; Meyer-  
hofstr. 1, 69117 Heidelberg (DE).

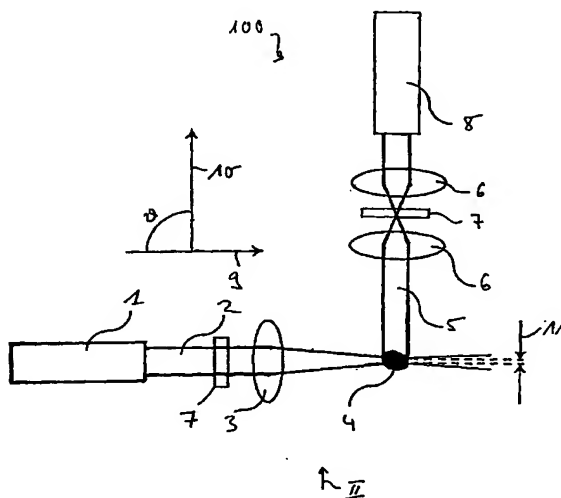
(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): STELZER, Ernst, H.  
K. [DE/DE]; Eschelbronnerstr. 79, 74909 Meckesheim  
(DE). ENDERS, Sebastian [DE/DE]; Fritz-Frey-Str.8,  
69124 Heidelberg (DE). HUISKEN, Jan [DE/DE];  
Bergheimer Str. 127, 69115 Heidelberg (DE). LINDEK,  
Steffen [DE/DE]; Ringstr.11, 68723 Plankstadt (DE).  
SWOGER, James, H. [CA/DE]; Gaisbergstr. 72, 69115  
Heidelberg (DE).(74) Anwalt: WEICKMANN & WEICKMANN; Postfach  
860 820, 81635 München (DE).(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,  
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,  
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,  
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,  
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO,  
RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,  
UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MICROSCOPE WITH A VIEWING DIRECTION PERPENDICULAR TO THE ILLUMINATION DIRECTION

(54) Bezeichnung: MIKROSKOP MIT BEOBACHTUNGSRICHTUNG SENKRECHT ZUR BELEUCHTUNGSRICHTUNG



(57) Abstract: The invention relates to a microscope, in which a layer of the sample is illuminated by a thin strip of light (11) and the sample is viewed (5) perpendicular to the plane of the strip of light. The depth of the strip of light (11) thus essentially determines the depth of focus of the system. To record the image, the object (4) is displaced through the strip of light (11), which remains fixed in relation to the detector (8), and fluorescent and/or diffused light is captured by a planar detector. Objects (4) that absorb or diffuse a large amount of light are viewed from several spatial directions. The three-dimensional images, which are captured from every direction can be combined retrospectively to form one image, in which the data is weighted according to its resolution. The resolution of the combined image is then dominated by the lateral resolution of the individual images.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2004/053558 A1



(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

**Erklärung gemäß Regel 4.17:**

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US*

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft ein Mikroskop, bei dem eine Schicht der Probe durch einen dünnen Lichtstreifen (11) beleuchtet wird und die Beobachtung (5) senkrecht zu der Ebene des Lichtstreifens erfolgt. Die Dicke des Lichtstreifens (11) bestimmt somit wesentlich die Schärfentiefe des Systems. Für die Bildaufnahme wird das Objekt (4) durch den bezüglich des Detektors (8) feststehenden Lichtstreifen (11) bewegt, und Fluoreszenz-oder/und Streulicht wird mit einem flächigen Detektor aufgenommen. Stark absorbierende oder stark streuende Objekte (4) werden aus mehreren Raumrichtungen beobachtet. Die dreidimensionalen Aufnahmen, die aus jeder Richtung gemacht werden, können nachträglich zu einer Aufnahme kombiniert werden, in der die Daten entsprechend ihrer Auflösung gewichtet werden. Die Auflösung der kombinierten Aufnahme wird dann durch die laterale Auflösung der einzelnen Aufnahmen dominiert.

## MIKROSKOP MIT BEOBACHTUNGSRICHTUNG SENKRECHT ZUR BELEUCHTUNGSRICHTUNG

5

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Mikroskop gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1.

10 Im Gegensatz zu der Arbeit an einzelnen Zellen sind lichtmikroskopische Untersuchungen an Embryonen und anderen entwicklungsbiologisch relevanten Proben mit den besonderen Problemen der Absorption und des Auflösungsverlustes behaftet. Zum Beispiel können biologische Fragestellungen im Zusammenhang mit Genexpressionsmustern in sich entwickelnden Organismen derzeit nur schwer mit lichtmikroskopischen Bildgebungsverfahren beantwortet werden, da diese oft zu langsam, zu gering auflösend oder technisch komplex sind oder vom freien Arbeitsabstand oder von der Probenhalterung her eine Beobachtung von millimetergroßen Objekten nicht gestatten. Eine akzeptable Lösung muß die Handhabung großer Proben und eine schnelle, hochauflösende Aufnahme der Daten erlauben und dabei technisch möglichst einfach zu realisieren sein.

15

20

Aus der wissenschaftlichen Literatur ist ein Mikroskop für die ozeanographische Forschung bekannt, das dadurch gekennzeichnet ist, dass es mit einem Laser eine Beleuchtungslichtebene in einer Probenkammer erzeugt und senkrecht zu dieser Ebene mit einer Kamera die in der Beleuchtungslichtebene erzeugten Fluoreszenzsignale detektiert [E. Fuchs et al., Opt. Express 10, 145 (2002)]. Dieses Mikroskop ähnelt dem Ultramikroskop von H. Siedentopf und R. Zsigmondy [Ann. Phys. 10(4), 1 (1903)] und wird für die Detektion einzelner freischwimmender Partikel wie Bakterien eingesetzt.

25

30 Es ist nicht dafür geeignet, millimetergroße, beispielsweise entwicklungsbiologische Proben aufzunehmen, da eine Küvette als Probenhalter dient. Ebenso ist es nicht für dreidimensionale Aufnahmen geeignet, da es über

- 2 -

keine Möglichkeit verfügt, die Probe relativ zur Beleuchtungslichtebene zu bewegen.

5 Aus der DE 19720513 A1 bzw. der US 5,903,781 sowie aus der wissenschaftlichen Literatur [D. Huber et al., J. Microsc. 202, 208 (2001)] ist ein Instrument für die dreidimensionale Makrographie bekannt, bei dem eine Anordnung zur Erzeugung von Lichtebenen für die photographische Erfassung von Objekten eingesetzt wird. Dabei wird ein Objekt durch eine Beleuchtungsebene bewegt und das reflektierte und gestreute Licht mit  
10 einer Kamera detektiert. Dieses Gerät dient dazu, dreidimensionale Rekonstruktionen von zentimetergroßen Objekten anzufertigen. Es ist aber nicht für die Verwendung von Fluoreszenzsignalen und auch nicht für die hochaufgelöste Wiedergabe der Objekte geeignet. Es wird eine Spaltfigurblinde in Verbindung mit einer Spiegelanordnung für die Erzeugung der Lichtebe-  
15 nen eingesetzt. Durch den Einsatz eines nur linear beweglichen Proben-  
tischs kann die Probe nicht gedreht werden, so dass keine Beobachtung der Probe von mehreren Seiten möglich ist.

20 Ferner sind aus der technisch-wissenschaftlichen Literatur Aufbaue für optische Tomographie bekannt. Die optische Projektionstomographie wird beispielsweise in der Genexpressionsanalyse eingesetzt [J. Sharpe et al., Science 296, 541 (2002)]. Dabei handelt es sich um ein System, in dem Projektionen biologischer Proben aufgezeichnet werden, wobei die Probe um eine Achse senkrecht zur Detektionsrichtung gedreht wird. Da die  
25 Probe nicht senkrecht zur Detektionsachse durch eine Beleuchtungslichtebene selektiv beleuchtet wird, hat das Mikroskop im Gegensatz zum erfindungsgemäßen Mikroskop eine sehr große Schärfentiefe, durch den ein großer Teil der Probe erfaßt wird. Daher bietet das Mikroskop nicht die Möglichkeit, die Probe längs der Detektionsachse zu bewegen, um ein  
30 dreidimensionales Bild aufzunehmen. Ein dreidimensionales Bild der Probe mit räumlicher Auflösung ist somit nur durch die Rekonstruktion aus den Projektionen möglich.

Aus der DE 43 26 473 C2 ist ein konfokales Theta-Mikroskop bekannt, das dadurch gekennzeichnet ist, dass es ein erstes Objektiv zur Punktbeleuchtung und ein zweites Objektiv zur Abbildung des Objektlichts auf einen Punktdetektor verwendet, wobei die Detektionsrichtung annähernd senkrecht auf der Beleuchtungsrichtung steht. Dadurch ist der konfokale Überlagerungsbereich des Beleuchtungsvolumens mit dem Detektionsvolumen besonders klein und das Mikroskop erreicht eine fast isotrope Auflösung, deren Größenordnung der lateralen Auflösung eines konfokalen Mikroskops entspricht.

Dieses Theta-Mikroskop ist jedoch konfokal arrangiert, was hohe Anforderungen an die relative Justierung des Beleuchtungs- und des Detektionsbrennpunkts stellt. Außerdem ist es trotz eines großen Arbeitsabstands nicht ohne weiteres in der Lage, Aufnahmen von großen Objekten zu machen. Dies liegt daran, dass das Objekt im Theta-Mikroskop bei der Objektrasterung nicht genug Bewegungsfreiheit hat und dass es wegen der Punktdetektion in drei Richtungen gerastert werden muß, wodurch eine Aufnahme sehr lange dauert. Das Beleuchtungslicht wird zu einem Beleuchtungspunkt fokussiert.

Die der vorliegenden Erfindung zugrundeliegende Aufgabe besteht darin, ein Mikroskop vorzuschlagen, das für die hochauflösende dreidimensionale Beobachtung von millimetergroßen biologischen Objekten geeignet ist, wobei eine schnelle Aufnahme der Daten möglich ist und der Aufbau technisch möglichst einfach zu realisieren ist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch das im Anspruch 1 angegebene Mikroskop gelöst. Die Probe wird durch einen dünnen Lichtstreifen beleuchtet und die Beobachtung erfolgt senkrecht zu diesem Objektbeleuchtungsbereich, der eine flächenartige Ausdehnung hat. Die Dicke des Beleuchtungslichtstreifens bestimmt somit zu wesentlichen Teilen die Schärfentiefe des Systems. Für die Bildaufnahme wird das Objekt durch

den raumfesten Lichtstreifen bewegt, und Fluoreszenz- oder/und Streulicht werden in jeder Position der Rasterbewegung mit einem flächigen Detektor aufgenommen. Da das Objekt in der bevorzugten Ausführungsform rotiert werden kann, ist es möglich, solche dreidimensionalen Aufnahmen von mehreren Seiten zu machen und sie zu einer einzigen dreidimensionalen Aufnahme zu kombinieren, deren Auflösung im Wesentlichen durch die laterale Auflösung der einzelnen Aufnahmen bestimmt wird. Die hohe Auflösung dieser Aufnahme ist das Ergebnis der fokussierten Beleuchtung, der senkrechten Detektion, der Bewegung des Objekts und der Kombination der einzelnen Aufnahmen durch Bildverarbeitung.

Das erfindungsgemäße Mikroskop verfügt über einen Beleuchtungslichtpfad und einen Detektionslichtpfad, die im Objektbeleuchtungsbereich vorzugsweise orthogonal zueinander stehen, wodurch die Detektionsrichtung senkrecht auf der Beleuchtungslichtebene steht. Jedoch werden die Vorteile der Erfindung in ausreichendem Maße auch dann noch erzielt, wenn der Winkel zwischen der Beleuchtungs- und der Detektionsrichtung bzw. zwischen der Beleuchtungslichtebene und der Detektionsrichtung in nicht zu großem Maße von einem rechten Winkel abweicht.

Vorteilhafterweise wird als Lichtquelle ein Laser eingesetzt, der die selektive Anregung von Fluoreszenzemission in der Probe ermöglicht. Zum Fokussieren des Beleuchtungslichts zu einem dünnen Streifen wird vorzugsweise eine Zylinderlinse verwendet, es kann aber auch ein anderes fokussierendes Element (beispielsweise ein holographisches Element oder eine konische Linse (Axicon) oder eine Phasenplatte oder andere Elemente zur Erzeugung eines Bessel-Strahls) eingesetzt werden.

Das detektierte Licht ist vorzugsweise Fluoreszenzlicht. Möglich ist aber auch die Detektion von Streulicht. Das Detektionslicht wird vorzugsweise mit einem telezentrischen System aus zwei Objektiven auf den Detektor abgebildet. Geeignet sind aber auch andere optische Baugruppen.

Die Detektion erfolgt vorzugsweise mit einem flächigen Detektor, der das ganze Feld detektiert, beispielsweise einer CCD-Kamera. Durch die Verwendung eines solchen Detektors ist eine schnelle Bildaufnahme möglich, und die Bewegung der Probe für eine dreidimensionale Aufnahme ist auf  
5 eine Richtung (nämlich längs der Detektionsachse) beschränkt. Die Auflösung des Systems wird durch die laterale Auflösung der Detektionsoptik bestimmt.

Da die Fläche der derzeit verfügbaren Detektoren im allgemeinen nicht  
10 ausreicht um eine vollständige, hochaufgelöste Aufnahme von mehreren Millimeter großen Objekten zu gewährleisten, besteht in einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops die Möglichkeit, den Detektor in der Detektionsebene, also im Wesentlichen seitlich zur Detektionsrichtung, zu bewegen, um Bilder von Teilen des Objekts aufzunehmen, die zu einem  
15 Bild des gesamten Objekts zusammengesetzt werden können.

In einem einfachen, bevorzugten Aufbau werden keine optischen Elemente zur Führung der Strahlengänge verwendet. Es können aber beispielsweise Spiegel, dichroitische Spiegel, Strahlteiler oder optische Fasern für die  
20 Führung der Strahlengänge eingesetzt werden. Da in dem erfindungsgemäßen Mikroskop die Beleuchtungs- und Detektionsstrahlengänge getrennt sind, kann auf den in anderen Fluoreszenzmikroskopen üblichen Einsatz passiver Bauteile wie dichroitischer Spiegel oder aktiver, beispielsweise akusto-optischer Bauteile, für die Trennung von Beleuchtungs- und Fluo-  
25 reszenzlicht verzichtet werden.

Es besteht die Möglichkeit, den Aufbau zum Beispiel durch einen weiteren Beleuchtungslichtpfad zu ergänzen, dessen Licht zu einem Streifen bzw. Objektbeleuchtungsbereich fokussiert wird, der vorzugsweise in der glei-  
30 chen Ebene wie der Objektbeleuchtungsbereich des ersten Beleuchtungslichtpfads liegt, so dass eine bessere Ausleuchtung der Probe erreicht wird. Das Licht für diesen weiteren Beleuchtungslichtpfad kann aus derselben

- 6 -

Lichtquelle kommen. Vorteilhafterweise wird die Probe hierbei aus zwei gegenüberliegenden Richtungen beleuchtet. Im Gegensatz zu der 4Pi-konfokalen Mikroskopie [S. Hell und E.H.K. Stelzer, J. Opt. Soc. Am. A 9, 2159 (1992)] ist der Justieraufwand in dem erfindungsgemäßen Mikroskop gering, denn es müssen nur zwei mehrere Mikrometer dicke Lichtstreifen überlagert werden. Außerdem muß die Phase der Strahlen nicht berücksichtigt werden.

Das erfindungsgemäße Mikroskop kann aber auch als nicht-konfokales 4Pi-Theta-Mikroskop betrieben werden. Hierbei wird die Probe wie in einem 4Pi(A)-konfokalen Mikroskop aus zwei entgegengesetzten Richtungen kohärent beleuchtet, so dass längs dieser Beleuchtungsachse ein Interferenzmuster auftritt, das die Intensität in der Beleuchtungslichtebene räumlich moduliert. Dadurch wird das Beleuchtungsvolumen halbiert, und durch ein Verschieben des Interferenzmusters (durch eine Verstellung der Phasendifferenz zwischen den Strahlen) ist es möglich, sich ergänzende Bereiche der Probe zu beleuchten, so dass ein Bild mit erhöhter Auflösung längs der Beleuchtungsachse rekonstruiert werden kann.

Es besteht die Möglichkeit, den Aufbau z.B. durch einen weiteren Detektionslichtpfad zu ergänzen, durch den Licht detektiert wird, das in entgegengesetzter Richtung zum bestehenden Detektionslichtpfad emittiert wird. Dadurch kann die Detektion des Lichts stets so erfolgen, dass das Licht einen möglichst kurzen Weg durch die Probe zurücklegt.

Zusätzlich können auch Streulichtdetektoren oder/und Transmissionslichtdetektoren vorgesehen sein.

Es ist zwar möglich, die Probe in dem erfindungsgemäßen Mikroskop auf einen Probentisch zu legen oder in Luft zu halten, jedoch wird die Probe vorzugsweise durch eine Halterung von oben in einer wassergefüllten Probenkammer gehalten und kann um die senkrechte, also in Schwerkraft-



richtung liegende Achse gedreht werden. Dies hat den Vorteil, dass bei der Drehung der Probe für eine Aufnahme aus einer anderen Richtung keine Veränderung der auf die Probe wirkende Schwerkraft erfolgt und sie sich nicht verformt. Vorteilhafterweise wird bei einer solchen Drehung der Probe  
5 in der Probenkammer die Probenkammer nicht bewegt, so dass sich die optischen Weglängen (abgesehen von Unterschieden durch den Brechungsindex in der Probe selbst) während des Bewegungsvorgangs nicht ändern. Dies führt zu einer besseren Bildqualität. Vorteilhafterweise kann die auf diese Art gehaltene Probe so ausgerichtet werden, dass der Einfluß von  
10 stark streuenden oder absorbierenden Teilen der Probe bei der Bildaufnahme minimiert wird.

Es ist in einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops auch möglich, die Beleuchtungs- und Detektionspfade um das raum-  
15 feste zu untersuchende Objekt zu drehen. Dann muß jedoch die Probe bzw. das Objekt im allgemeinen nachgeführt werden, um in weiteren Aufnahmen abgebildet zu werden.

Das zu untersuchende Objekt befindet sich bei einer Aufnahme in dem  
20 flächenartigen Objektbeleuchtungsbereich, wobei das Objekt wesentlich größer als die Dicke dieses Bereichs ist. Eine zweidimensionale Aufnahme der sich in diesem Bereich befindlichen Teile des Objekts erfolgt durch den flächigen Detektor. Eine dreidimensionale Aufnahme des Objekts erfolgt durch Rasterung des Objekts in Detektionsrichtung durch den raumfesten  
25 Beleuchtungsbereich (oder durch Rasterung des Beleuchtungsbereichs durch das Objekt), wobei in jeder Position des Objekts ein zweidimensionales Bild aufgenommen wird. Die Synchronisation von Bewegung, Beleuchtung und Detektion wird vorteilhafterweise optimiert, um die Probenbelastung zu minimieren.

30

Vorzugsweise wird die Drehung des Objekts (ebenso wie die lineare Rasterbewegung) elektronisch gesteuert, so dass die Aufnahme mehrerer Bilder

aus verschiedenen Winkeln automatisiert werden kann und die Geschwindigkeit der Probenuntersuchung erhöht wird. Die Anzahl der Bilder und die Drehwinkel der Probe, die für eine Gesamtaufnahme mit einer bestimmten räumlichen Auflösung notwendig sind, können zugunsten einer kurzen  
5 Probenuntersuchungszeit und damit einer geringen Probenbelastung optimiert werden.

Vorteilhafterweise kann das zu untersuchende Objekt auch um die Beleuchtungsachse gekippt werden, so dass es noch aus zusätzlichen Richtungen  
10 beobachtet werden kann. In einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops ist ein zweiter Detektionslichtpfad vorhanden, der die Detektion des nach unten emittierten Lichts erlaubt. Wird dann der Objektbeleuchtungsbereich um 90 Grad um die Beleuchtungsachse gedreht (beispielsweise durch die Drehung der Zylinderlinse), so kann die Probe  
15 horizontal optisch geschnitten werden (und durch eine vertikale Rasterbewegung kann eine dreidimensionale Aufnahme erzeugt werden).

Vorteilhafterweise kann in dem erfindungsgemäßen Mikroskop die Zylinderlinse vorzugsweise hochfrequent bewegt werden, beispielsweise im  
20 Beleuchtungslichtpfad hochfrequent längs der Zylinderachse und/oder der Beleuchtungsachse bewegt werden oder/und die Zylinderachse hochfrequent in Richtung der Beleuchtungsachse geneigt werden, so dass der Einfluß von Verschmutzungen auf der Zylinderlinse weniger stark ist und die Probe gleichmäßiger ausgeleuchtet wird.

25

Vorteilhafterweise kann die Halterung vieler biologischer Proben einfach durch Einbetten in ein Gel (ca. 99% Wasser) oder eine andere polymerisierende oder sich vernetzende Struktur realisiert werden.

30

Die durch Drehung des zu untersuchenden Objekts realisierten Aufnahmen aus verschiedenen Richtungen erlauben eine dreidimensionale Rekonstruktion desselben durch die Kombination der einzelnen dreidimensionalen

Rohdatensätze. Da bei der bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops nur ein Teil der Probe optimal abgebildet wird (im allgemeinen die beiden Oktanten, die innerhalb des rechten Winkels zwischen Beleuchtungs- und Detektionsachse liegen), sind mindestens vier  
5 Aufnahmen für eine gute Rekonstruktion der gesamten Probe notwendig. Diese Aufnahmen lassen sich so kombinieren, dass die Rekonstruktion eine höhere Auflösung bietet als die einzelnen Aufnahmen. Die Qualität des rekonstruierten Bilds läßt sich durch Aufnahmen entlang weiterer Winkel verbessern, so dass die toten Winkel der gemeinsamen optischen Über-  
10 tragungsfunktion aufgefüllt werden.

Durch die Verwendung von Objektiven mit langen Brennweiten steht ein Arbeitsabstand von mehreren Millimetern zur Verfügung. Die Größe des Objekts wird dadurch in erster Linie durch seine Lichtdurchlässigkeit be-  
15 grenzt: Sofern man das Objekt vollständig (und nicht nur die Randschichten) untersuchen will, muß hinreichend Licht aus jedem Teil von ihm in der einen oder anderen Orientierung den Detektor erreichen.

Wie vorangehend bereits ausgeführt, kann es in Abhängigkeit von der  
20 Vergrößerung des optischen Systems im Detektionsstrahlengang erforderlich sein, den dem Detektionsstrahlengang zugeordneten Detektor zu verschieben, um, im Wesentlichen bedingt durch die begrenzte Anzahl der Detektorpixel bei zweidimensionalen Pixeldetektoren, ein vollständiges Bild des zu untersuchenden Objekts aufnehmen zu können. Das heißt, die  
25 Auflösung des Gesamtsystems ist im Wesentlichen nicht durch die numerische Apertur der optischen Komponenten, insbesondere der verwendeten Linsen, und somit durch die Auflösung in der Probe selbst begrenzt, sondern mehr durch die technischen Limitationen, die im Bereich von Pixeldetektoren, wie sie beispielsweise in CCD-Kameras Anwendung finden, vorhanden sind. Diesem Problem kann entgegengetreten werden durch den  
30 Einsatz hochauflösender Pixeldetektoren mit einer Pixelzahl im Bereich von mehreren Millionen, wie sie beispielsweise in der Astronomie oder der

digitalen Fotografie eingesetzt werden. Diese Pixeldetektoren sind jedoch vergleichsweise teuer und langsam.

5      Gemäß einem weiteren Aspekt sieht daher die vorliegende Erfindung ein  
Mikroskop mit wenigstens einem Beleuchtungsstrahlengang und wenig-  
stens einem Detektionsstrahlengang vor, das dadurch gekennzeichnet ist,  
dass bei jedem Beleuchtungsstrahlengang eine Fokussieranordnung vor-  
gesehen ist zur Erzeugung eines in Richtung einer Beleuchtungsachse des  
10      Beleuchtungsstrahlengangs ausgedehnten linienartigen Objektbeleuchtungs-  
bereichs, dass eine Detektionsrichtung des wenigstens einen Detektions-  
strahlengangs näherungsweise orthogonal zu dem linienartigen Objekt-  
beleuchtungsbereich steht, und dass wenigstens eine Bewegungsanord-  
nung vorgesehen ist zur Erzeugung einer Relativbewegung zwischen dem  
linienartigen Objektbeleuchtungsbereich und einem zu untersuchenden  
15      Objekt.

Gemäß diesem Aspekt der vorliegenden Erfindung wird also der Objektbe-  
leuchtungsbereich im Wesentlichen auf eine Dimension, nämlich die Längs-  
dimension, begrenzt, so dass von der vorangehend diskutierten flächen-  
20      artigen Struktur des Objektbeleuchtungsbereichs zu einer langgestreckten  
bzw. linienartigen Struktur übergegangen wird. Mit diesem linienartigen  
Objektbeleuchtungsbereich werden entsprechend auch nur linienartige  
Abschnitte eines zu untersuchenden Objekts ausgeleuchtet und zur Fluo-  
reszenz angeregt bzw. zur Lichtstreuung genutzt. Diese nunmehr erzeugten  
25      linienartigen beleuchteten Bereiche können durch den oder die Detektions-  
strahlengänge auf Pixeldetektoren abgebildet werden, die eine langge-  
streckte Struktur haben, also im Wesentlichen in einer Dimension aufein-  
ander folgend angeordnete Pixel aufweisen. Derartige im Prinzip als "ein-  
dimensionale" Pixeldetektoren zu interpretierende Detektoren können mit  
30      wesentlich höherer Pixelzahl beispielsweise bis zu 8000 Pixeln bereitge-  
stellt werden. Die durch den linienartigen Objektbeleuchtungsbereich nun-  
mehr ausgeleuchteten und im Detektor abgebildeten Abschnitte eines zu

untersuchenden Objekts können somit mit entsprechend hoher Auflösung auch im Detektor selbst aufgenommen und entsprechend in hochaufgelöste Bilder umgesetzt werden. Da die Dimension der bei derartigen Pixeldetektoren vorhandenen Pixel quer zur Längserstreckung des Pixeldetektors im Allgemeinen deutlich kleiner sein wird, als die Breite des Bildes des linienartigen Objektbeleuchtungsbereichs in dieser Richtung, auch unter Berücksichtigung der im Detektionsstrahlengang erzeugten Vergrößerung, kann es vorteilhaft sein, zu langgestreckten "zweidimensionalen" Pixeldetektoren überzugehen, die beispielsweise eine Pixelzahl von 64 x 4096 aufweisen, also in der Längsrichtung des Objektbeleuchtungsbereichs bzw. des entsprechenden Bildes desselben eine wesentlich größere Pixelanzahl als quer dazu aufweisen.

Um mit einem derartigen System dann ein zu untersuchendes Objekt vollständig abbilden zu können bzw. ein komplettes Bild davon erzeugen zu können, kann eine Rasterung zwischen dem zu untersuchenden Objekt und dem Beleuchtungsstrahlengang bzw. dem Detektionsstrahlengang erfolgen, so dass im Prinzip das zu untersuchende Objekt linienartig abgetastet wird und die einzelnen dabei erzeugten Linienbilder dann zu einem gesamten Bild zusammengesetzt werden können.

Um dies zu erreichen, kann beispielsweise vorgesehen sein, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung dazu ausgebildet ist, eine Relativbewegung zwischen dem Objekt und dem linienartigen Objektbeleuchtungsbereich im Wesentlichen orthogonal zur Beleuchtungsachse und zur Detektionsrichtung zu erzeugen. Hierzu kann beispielsweise vorgesehen sein, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung dazu ausgebildet ist, das Objekt zur Erzeugung einer Relativbewegung zu bewegen.

Alternativ oder zusätzlich zu dieser Verlagerung des zu untersuchenden Objekts kann auch vorgesehen sein, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung dazu ausgebildet ist, den wenigstens einen Beleuchtungsstrahl-

lengang wenigstens in dem durch diesen bereitgestellten linienartigen Objektbeleuchtungsbereich zur Erzeugung der Relativbewegung zu bewegen. Da dabei bei beispielsweise festgehaltenem Objekt der Objektbeleuchtungsbereich verschoben wird, ist es dann erforderlich, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung dazu ausgebildet ist, den wenigstens einen Detektionsstrahlengang in Anpassung an die Bewegung des wenigstens einen Beleuchtungsstrahlengangs wenigstens in seinem objektnahen Bereich zu bewegen.

10 Wie bereits vorangehend ausgeführt, kann der wenigstens eine Detektionsstrahlengang einen Detektor mit einer Vielzahl an Detektorpixeln aufweisen, wobei dann vorzugsweise vorgesehen sein kann, dass die Anzahl und die Positionierung der Detektorpixel des Detektors derart gewählt sind, dass der wenigstens eine Detektionsstrahlengang einen durch den wenigstens einen Beleuchtungsstrahlengang im Objektbeleuchtungsbereich beleuchteten Abschnitt des Objekts im Wesentlichen vollständig auf den Detektor abbildet.

Um mit dem erfindungsgemäßen System nicht nur eine flächenmäßige Abbildung eines zu untersuchenden Objekts erzeugen zu können, sondern dieses auch durch dreidimensionales Abtasten dreidimensional abbilden zu können, wird weiter vorgeschlagen, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung dazu ausgebildet ist, das zu untersuchende Objekt im Wesentlichen in Richtung der Detektionsrichtung des wenigstens einen Detektionsstrahlengangs zu bewegen.

Aus den vorangehenden Erläuterungen wird offensichtlich, dass es ein wesentliches Prinzip der vorliegenden Erfindung ist, mit wenigstens einem Beleuchtungsstrahlengang einen langgestreckten Objektbeleuchtungsbereich zu erzeugen, in dem dann ein zu untersuchendes Objekt positioniert werden kann, um durch Fluoreszenzanregung oder durch Streulichterzeugung in wenigstens einem Detektionsstrahlengang ein Bild des im Objektbe-

leuchtungsbereich positionierten Abschnitts des zu untersuchenden Objekts oder ggf. des gesamten Objekts zu erzeugen.

Gemäß der vorliegenden Erfindung wird daher weiter ein Mikroskop vorgeschlagen, das wenigstens einen Beleuchtungsstrahlengang und wenigstens einen Detektionsstrahlengang aufweist und dadurch gekennzeichnet ist, dass bei jedem Beleuchtungsstrahlengang eine Fokussieranordnung vorgesehen ist zur Erzeugung eines in Richtung einer Beleuchtungsachse des Beleuchtungsstrahlengangs ausgedehnten Objektbeleuchtungsbereichs, dass eine Detektionseinrichtung des wenigstens einen Detektionsstrahlengangs näherungsweise orthogonal zu dem Objektbeleuchtungsbereich steht, und dass eine Bewegungsanordnung vorgesehen ist zur Erzeugung einer Relativbewegung zwischen dem Objektbeleuchtungsbereich und einem zu untersuchenden Objekt.

15

Die Erfindung wird nachstehend anhand der beigefügten Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 die schematische Darstellung des Strahlengangs in einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops, wobei ein einziger Beleuchtungsstrahlengang und ein einziger Detektionsstrahlengang vorhanden sind, betrachtet in Blickrichtung I der Fig. 2;

Fig. 2 die in Fig. 1 dargestellte Ausführungsform in Blickrichtung II in Fig. 1;

Fig. 3 eine Prinzipdarstellung des Beleuchtungsstrahlengangs, der von einer Zylinderlinse ausgeht und einen Objektbeleuchtungsbereich im Bereich einer Fokuslinie bildet;

- 14 -

Fig. 4 eine Draufsicht auf den Strahlengang der Fig. 3 in Blickrichtung IV in Fig. 3;

5 Fig. 5 die schematische Darstellung des Strahlengangs in einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops, wobei zwei Beleuchtungsstrahlengänge vorhanden sind;

10 Fig. 6 eine weitere Prinzipdarstellung eines erfindungsgemäßen Mikroskops;

Fig. 7 eine der Fig. 1 entsprechende Ansicht eines alternativ ausgestalteten erfindungsgemäßen Mikroskops.

15 Die Fig. 1 zeigt eine Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Mikroskops 100. Der Aufbau umfasst eine Lichtquelle 1, deren kollimierter Lichtstrahl 2 durch eine Zylinderlinse 3 in die Probe 4 fokussiert wird. Dabei entsteht ein dünner vertikaler Lichtstreifen 11, durch den in der Probe 4 Fluoreszenzemission induziert werden kann. Das emittierte Licht 5  
20 wird durch eine Detektionsoptik 6 auf den flächigen Detektor 8, beispielsweise eine CCD-Kamera abgebildet.

Durch die rechtwinklige Anordnung ( = 90 Grad) von Beleuchtungs- 9 und Detektionsrichtung 10 ist der Aufbau besonders einfach. Insbesondere  
25 kann auf den Einsatz dichroitischer Spiegel für die Trennung von Beleuchtungs- und Fluoreszenzlicht im Detektionsstrahlengang 5 verzichtet werden. Die Filter 7 im Beleuchtungs- 2 und im Detektionsstrahlengang 5 sind Glasfilter oder akusto-/elektro-/magneto-optische Filter und erlauben die selektive Auswahl von Wellenlängen für die Beleuchtung und die Detektion.

30

Die Probe 4 wird durch eine Halterung 12 in einer Probekammer 13 gehalten und für die Bildaufnahme in Detektionsrichtung 10 durch die raumfeste



Lichtebene 11 bewegt. Die Halterung 12 erlaubt außerdem die Drehung der Probe 4 um ihre senkrechte Achse 14, so dass die Probe 4 von mehreren Seiten beleuchtet und beobachtet werden kann.

5 Die Fig. 3 und 4 zeigen in prinzipieller Art und Weise den vorangehend angesprochenen und unter Einsatz der Zylinderlinse 3 erzeugten Beleuchtungsstrahlengang 2. Durch die Zylinderlinse 3, deren Brennweite vorzugsweise im Bereich zwischen 10 mm und 100 mm liegen kann, wird das von der Lichtquelle 1 emittierte Licht unter einem vergleichsweise kleinen  
10 Winkel  $\alpha$  fokussiert. Es entsteht im Bereich einer Fokushinie L somit ein in der Fig. 3 strichliert eingezeichneter Objektbeleuchtungsbereich 20, der näherungsweise eine flächenartige bzw. ebenenartige Struktur bzw. Ausdehnung hat und beiderseits der Fokushinie durch Zylinderabschnitte gebildet ist. Bei einer in Richtung der Beleuchtungsachse bzw. Beleuchtungs-  
15 richtung gemessenen Abmessung a dieses Objektbeleuchtungsbereichs 20 von etwa 5 mm und einer Dickenabmessung des Beleuchtungsstrahlengangs 2 im Bereich der Fokushinie b von etwa 20  $\mu\text{m}$  ergibt sich an den in Beleuchtungsrichtung gelegenen Endbereichen 22, 24 des Objektbeleuchtungsbereichs 20 eine Dickenabmessung c von näherungsweise 60  $\mu\text{m}$ ,  
20 was natürlich abhängt von der für die Zylinderlinse 3 vorgegebenen numerischen Apertur. Über den gesamten Objektbeleuchtungsbereich 20 hinweg ist also eine - bezogen auf die Abmessung der zu untersuchenden Objekte - vernachlässigbare Variation der Dicke des Objektbeleuchtungsbereichs 20 im Beleuchtungsstrahlengang 2 vorhanden, so dass insbesondere auch  
25 unter Berücksichtigung der Abmessungen der zu untersuchenden Objekte hier von einer in erster Näherung konstanten Dicke des Objektbeleuchtungsbereichs und somit einer flächenartigen bzw. ebenenartigen Struktur desselben ausgegangen werden kann.

30 In der Fig. 5 ist eine abgewandelte Ausgestaltungsform des Mikroskops 100 dargestellt, bei welcher zwei Beleuchtungsstrahlengänge 2, 2' vorhanden sind. Im dargestellten Falle weist jeder dieser beiden Beleuchtungs-

- 16 -

strahlengänge 2, 2', die einander entgegengesetzt gerichtete Beleuchtungsrichtungen, jedoch einander entsprechende Beleuchtungsachsen aufweisen, jeweils eine Zylinderlinse 3, 3' mit ggf. zugeordnetem Filter 7, 7' sowie eine Lichtquelle 1, 1' auf. Bei einer Abwandlung dieser Ausgestaltungsform  
5 kann weiter vorgesehen sein, dass nur eine einzige Lichtquelle vorgesehen ist. Dabei entsteht durch Überlagerung der beiden Objektbeleuchtungsbereiche dieser Beleuchtungsstrahlengänge 2, 2', welche Objektbeleuchtungsbereiche vorangehend mit Bezug auf die Fig. 3 und 4 detaillierter  
10 geschildert worden sind, ein dünner vertikaler Lichtstreifen, der im Vergleich zu dem Lichtstreifen in der in Fig. 1 dargestellten Ausführungsform homogener ist. Das emittierte Licht 5 wird durch eine Detektionsoptik 6 auf den flächigen Detektor 8 abgebildet. Diese Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops eignet sich besonders für absorbierende Proben, bei denen mit einer einseitigen Beleuchtung nicht die gesamte Probe  
15 beleuchtet werden kann.

Bei dieser Ausgestaltungsform besteht die Möglichkeit, die beiden Beleuchtungsstrahlengänge 2, 2' bzw. die Lichtstrahlen derselben durch definierte Einstellung der Phasenlage dieser Lichtstrahlen zueinander dort, wo die  
20 beiden Objektbeleuchtungsbereiche dieser beiden Beleuchtungsstrahlengänge 2, 2' einander überlagert sind, gezielt zur Interferenz zu bringen. Auf diese Art und Weise wird es möglich, in demjenigen Bereich, in dem das zu untersuchende Objekt bzw. Probe 4 zu beleuchten ist, durch destruktive Interferenz bestimmte Abschnitte auszublenzen bzw. durch konstruktive  
25 Interferenz bestimmte Bereiche hervorzuheben, wodurch die Auflösung des Gesamtsystems weiter verbessert werden kann.

In Fig. 6 ist eine weitere Abwandlung des erfindungsgemäßen Mikroskops 100 angedeutet. Durch den Pfeil P wird angedeutet, dass die dort gezeigte  
30 Zylinderlinse 3 um die Beleuchtungsachse des Beleuchtungsstrahlengangs 2 gedreht werden kann, beispielsweise um 90°. Damit dreht sich auch der Objektbeleuchtungsbereich 20 dieses Beleuchtungsstrahlengangs 2, so

dass er ausgehend von der in Fig. 2 gezeigten Orientierung, in welcher er im Wesentlichen in der Zeichenebene liegt, um  $90^\circ$  gedreht ist und dann senkrecht zur Zeichenebene steht. Auf diese Art und Weise wird es möglich, das zu untersuchende Objekt 4 aus einer anderen Richtung zu betrachten, nämlich der in der Darstellung der Fig. 2 unter diesem Objekt 4 liegenden Richtung. Es kann also ein weiterer Detektionsstrahlengang 5' vorgesehen sein, bei welchem dann bezüglich des in der Fig. 1 erkennbaren Detektionsstrahlengangs 5 das zu untersuchende Objekt 4 unter einem Winkel von  $90^\circ$  betrachtet werden kann, ohne dass dieses Objekt 4 selbst gedreht worden wäre.

Bei einem derartigen System ist es beispielsweise möglich, unter Einsatz von Spiegeln 60 und eines Kippspiegels 26 verschiedene Detektionsstrahlengänge 5, 5' wahlweise, je nach Stellung des Kippspiegels 26 zu ein und demselben Detektor 8 bzw. ein und demselben optischen System mit Objektiven 6 zu leiten. In Zuordnung zur Drehstellung der Zylinderlinse 3 wird also dann der Kippspiegel 26 entsprechend umgeschaltet. Selbstverständlich ist es möglich, zwei Detektionsstrahlengänge 5, 5' mit jeweils zugeordneter Objektivanordnung und Detektor voneinander unabhängig und beispielsweise unter einem Winkel von  $90^\circ$  vorzusehen. Weiter ist es möglich, zumindest eines dieser Systeme dann bewegbar zu gestalten, so dass es zusammen mit der Zylinderlinse 3 um die Beleuchtungsachse des Beleuchtungsstrahlengangs 2 in Fig. 2 gedreht werden kann, so dass bei gleichzeitiger Drehung der Zylinderlinse 3 und dieses Detektionsstrahlengangs dann eine Rundumaufnahme des zu untersuchenden Objekts 4 erzeugt werden kann, ohne dass dieses Objekt selbst bewegt worden wäre.

Ein alternativ ausgestaltetes erfindungsgemäßes Mikroskop 100 ist in Fig. 7 dargestellt. Der grundsätzliche Aufbau bzw. auch die Betrachtungsweise sind so wie in Fig. 1, so dass allgemein auf die voranstehenden Ausführungen verwiesen werden kann. Es ist wieder ein im Wesentlichen durch den

Lichtstrahl 2 bereitgestellter Beleuchtungsstrahlengang vorhanden, der unter Einsatz eines optischen Systems fokussiert wird, um einen Objektbeleuchtungsbereich 20' zu generieren. Die hier eingesetzte Linse 3 ist nunmehr keine Zylinderlinse, sondern eine bezüglich der Beleuchtungsachse 9  
5 des Beleuchtungsstrahlengangs rotationssymmetrische Linse. Auf diese Art und Weise wird ein Objektbeleuchtungsbereich 20' erzeugt, der im Wesentlichen ebenfalls rotationssymmetrisch ist und somit insbesondere in demjenigen Bereich, in welchem auch das zu untersuchende Objekt 4 bzw. die Probe positioniert ist, als linearer Objektbeleuchtungsbereich bzw. linien-  
10 artiger Objektbeleuchtungsbereich interpretiert werden kann. Die Abmessung dieses im Wesentlichen rotationssymmetrischen, linienartigen Objektbeleuchtungsbereichs kann, natürlich abhängig von der Brennweite der Linse 3 bzw. des eingesetzten optischen Systems im Zentrum im Bereich von 10 - 20  $\mu\text{m}$  liegen, während in den Randbereichen eine Abmessung im  
15 Bereich von 40 - 60  $\mu\text{m}$  vorliegt.

Bei diesem in Fig. 7 gezeigten Mikroskop 100 wird also bei Positionierung einer Probe 4 im Objektbeleuchtungsbereich 20' kein scheiben- oder flächenartiger Bereich der Probe 4 ausgeleuchtet, sondern ein entsprechend  
20 linienartiger Bereich. Das im Detektionsstrahlengang 5 erzeugte Bild dieses linienartig ausgeleuchteten Bereichs wird über das optische System desselben auf den Detektor 8 abgebildet, so dass dort ein ggf. vergrößertes Linienbild generiert wird. Der Detektor 8 ist als Pixeldetektor aufgebaut und weist in Anpassung an das nunmehr erzeugte linienartige Bild eine mehr  
25 "eindimensionale" Pixelanordnung auf. Bei dieser Anordnung ist die Positionierung der Pixel so, dass eine wesentlich größere Anzahl der Pixel in der Längsrichtung des erzeugten linienartigen Bildes aufeinander folgt, als quer dazu. Vorzugsweise ist die Anzahl der Pixel in der Längsrichtung bzw. der Querrichtung so gewählt, dass das im Detektionsstrahlengang 5 erzeugte  
30 linienartige Bild vollständig durch den Detektor 8 aufgenommen werden kann, ohne diesen bewegen zu müssen. Im Extremfall ist es jedoch auch möglich, eine einzige Reihe von Pixeln vorzusehen. Hierbei ist zu berücksichtigen,

sichtigen, dass mit abnehmender Breite eines derartigen Pixelfeldes und mehr und mehr auftretendem Übergang zu einer einzigen Pixellinie die Anzahl der in einer solchen linienartigen Anordnung vorhandenen Pixel erhöht werden kann und insofern die Auflösung des Detektors 8 in dieser  
5 Richtung entsprechend erhöht werden kann.

Um mit diesem in Fig. 7 dargestellten nunmehr auch bedingt durch den möglichen Aufbau des Detektors 8 hochauflösenden Mikroskop 100 vollständige Bilder der Probe 4 erzeugen zu können, wird erfindungsgemäß  
10 eine Relativbewegung dieser Probe 4 bezüglich des linienartigen Objektbeleuchtungsbereichs 20' erzeugt. Hierzu gibt es grundsätzlich verschiedene Möglichkeiten. Zum einen kann die Probe 4 orthogonal zum linienartigen Objektbeleuchtungsbereich und auch orthogonal zum Detektionsstrahlengang 5 verschoben werden, also in der Darstellung der Fig. 7 senkrecht zur  
15 Zeichenebene. Auf diese Art und Weise werden rasterartig nach und nach linienartige Bereiche der Probe 4 ausgeleuchtet, so dass durch Zusammenfügen der entsprechend aufgenommenen Bilder ein Gesamtbild der Probe 4 in einer Ebene erzeugt werden kann. Um ein dreidimensionales Bild zu generieren, kann die Probe auch noch in Richtung des Detektionsstrahlengangs 5 bzw. der Detektionsrichtung 10 verschoben werden, so dass  
20 verschiedene Ebenen der Probe 4 durch die Fokalebene des Beleuchtungsstrahlengangs 5 hindurch bewegt werden.

Bei einer alternativen, in der Fig. 7 dargestellten Variante kann die Probe 4  
25 ortsfest gehalten werden, während sowohl im Beleuchtungsstrahlengang 2 als auch im Detektionsstrahlengang 5 Vorrichtungen 24 und 26 vorgesehen sind, die für eine Verschiebung dieser beiden Strahlengänge 2, 5 in ihrem probennahen Bereich sorgen. Diese Vorrichtungen 24, 26 können beispielsweise Strahlenablenkeinheiten sein, die beispielsweise je einen verkippbaren Spiegel umfassen. Die beiden Strahlenablenkeinheiten 24, 26 stehen  
30 unter der Ansteuerung einer Steuervorrichtung 28, um ihre Bewegung aufeinander abzustimmen, so dass sichergestellt ist, dass auch immer

- 20 -

derjenige Bereich der Probe 4, der momentan vom Objektbeleuchtungs-  
bereich 20' ausgeleuchtet wird, durch den Detektionsstrahlengang 5 auf  
den Detektor 8 abgebildet wird. Auf diese Art und Weise ist ein Abscannen  
der ansonsten nicht senkrecht zur Zeichenebene der Fig. 7 zu bewegenden  
5 Probe in einer Ebene möglich. Auch hier kann zum Erhalten einer dreidimen-  
sionalen Darstellung dann die Probe 4 wieder in der Detektionsrichtung 10  
verschoben werden, um aufeinander folgend mehrere Ebenen abzutasten.

Selbstverständlich ist es auch möglich, die beiden vorangehend angespro-  
chenen Möglichkeiten zur Erzeugung einer Relativbewegung zwischen der  
10 Probe 4 einerseits und den Strahlengängen andererseits zu kombinieren,  
wobei zu berücksichtigen ist, dass das Bewegen der Strahlengänge schnel-  
ler erfolgen kann, als das Bewegen der Probe.

15 Mit dem in Fig. 7 dargestellten System wird es also möglich, hochauflö-  
sende "eindimensionale" bzw. langgestreckte Pixelfelder im Detektor 8  
einzusetzen, um somit entsprechend hochaufgelöste Bilder der jeweiligen  
ausgeleuchteten Bereiche der Probe 4 erzeugen zu können. Ein weiterer  
Vorteil dieses "Abtastens" der Probe 4 ist, dass die Lage des Objektbe-  
20 leuchtungsbereichs verbessert auf das Sichtfeld der Detektionsoptik abge-  
stimmt werden kann bzw. dass Bereiche, die nicht abgebildet werden  
sollen, auch überhaupt nicht abgetastet bzw. beleuchtet werden müssen  
und insofern auch keine Beeinträchtigung der Abtastung bzw. Abbildung  
anderer interessanter Bereiche entsteht. Weiterhin wird durch diese  
25 Rasterbewegung des linienartigen Objektbeleuchtungsbereichs bezüglich  
der zu untersuchenden Probe über die Zeit hinweg eine Beleuchtungsebene  
bzw. ein flächiger Objektbeleuchtungsbereich generiert, der eine homoge-  
nere Intensität in Richtung der Relativbewegung aufweist, als dies bei  
entsprechender Strahlaufweitung bei den vorangehend beschriebenen  
30 Systemen der Fall ist, da das Intensitätsprofil im Objektbeleuchtungsbereich  
dort auch vom Intensitätsprofil des fokussierten Lichtstrahls abhängig ist.  
Darüber hinaus lassen sich durch die stärkere Fokussierung des Lichts

höhere Intensitäten erreichen. Die Laserleistung wird so effizienter genutzt, was besonders bei schwacher Fluoreszenz oder bei Mehrphotonenanregung vorteilhaft ist.

- 5 Es sei darauf hingewiesen, dass selbstverständlich verschiedene Aspekte des erfindungsgemäßen Mikroskops, wie beispielsweise das Bereitstellen verschiedener Anzahlen an Beleuchtungsstrahlengängen und Detektionsstrahlengängen bzw. die Relativpositionierung und Phaseneinstellung derselben, die Maßnahmen zum Bewegen eines Objekts durch Verschiebung  
10 oder Drehung oder zum Bewegen des optischen Systems bei beispielsweise festgehaltenem Objekt, unabhängig davon realisiert sein können, ob der Objektbeleuchtungsbereich flächenartig ausgedehnt ist oder im Wesentlichen strahlenartig bzw. linienartig ausgebildet ist.
- 15 Die Erfindung betrifft ein Mikroskop, bei dem eine Schicht der Probe durch einen dünnen Lichtstreifen 11 beleuchtet wird und die Beobachtung senkrecht zu der Ebene des Lichtstreifens erfolgt. Die Dicke des Lichtstreifens 11 bestimmt somit wesentlich die Schärfentiefe des Systems. Für die Bildaufnahme wird das Objekt 4 durch den bezüglich des Detektors feststehenden Lichtstreifen 11 bewegt, und Fluoreszenz- oder/und Streulicht  
20 wird mit einem flächigen Detektor aufgenommen. Stark absorbierende oder stark streuende Objekte 4 werden aus mehreren Raumrichtungen beobachtet. Die dreidimensionalen Aufnahmen, die aus jeder Richtung gemacht werden, können nachträglich zu einer Aufnahme kombiniert werden, in der  
25 die Daten entsprechend ihrer Auflösung gewichtet werden. Die Auflösung der kombinierten Aufnahme wird dann durch die laterale Auflösung der einzelnen Aufnahmen dominiert.

**Ansprüche**

1. Mikroskop mit wenigstens einem Beleuchtungsstrahlengang (2; 2, 2') und wenigstens einem Detektionsstrahlengang (5),  
dadurch gekennzeichnet,  
- dass bei jedem Beleuchtungsstrahlengang (2; 2, 2') eine Fokussieranordnung (3; 3, 3') vorgesehen ist zur Erzeugung eines in Richtung einer Beleuchtungsachse des Beleuchtungsstrahlengangs (2; 2, 2') und quer dazu ausgedehnten flächenartigen Objektbeleuchtungsbereichs (20),  
- dass eine Detektionsrichtung (10) des wenigstens einen Detektionsstrahlengangs (5) näherungsweise orthogonal zu dem flächenartigen Objektbeleuchtungsbereich (20) steht, und  
- dass eine Bewegungsanordnung (12) vorgesehen ist zur Erzeugung einer Relativbewegung zwischen dem flächenartigen Objektbeleuchtungsbereich (20) und einem zu untersuchenden Objekt (4).
2. Mikroskop nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet, dass durch die Bewegungsanordnung (12) eine Drehbewegung des Objekts (4) oder/und eine Verschiebewegung des Objekts (4) erzeugbar ist.
3. Mikroskop nach Anspruch 1 oder 2,  
dadurch gekennzeichnet, dass die Bewegungsanordnung (12) dazu ausgebildet ist, bei im Wesentlichen feststehendem flächenartigen Objektbeleuchtungsbereich (20) das Objekt (4) zu bewegen.
4. Mikroskop nach Anspruch 1 oder 2,



- 23 -

dadurch gekennzeichnet, dass die Bewegungsanordnung dazu ausgebildet ist, bei im Wesentlichen feststehendem Objekt (4) den flächenartigen Objektbeleuchtungsbereich (20) zu bewegen.

- 5      5.      Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 4,  
dadurch gekennzeichnet, dass der wenigstens eine Beleuchtungs-  
strahlungsgang (2; 2, 2') eine Zylinderlinse (3; 3, 3') zum Fokus-  
sieren des Beleuchtungslichts aufweist.
- 10      6.      Mikroskop nach Anspruch 5,  
dadurch gekennzeichnet, dass die Zylinderlinse (3; 3, 3') um die  
Beleuchtungsachse drehbar ist oder/und in Richtung der Beleuch-  
tungs- oder/und der Zylinderachse verschiebbar ist oder/und mit der  
Zylinderachse bezüglich der Beleuchtungsachse kippbar ist.
- 15      7.      Mikroskop nach Anspruch 6,  
dadurch gekennzeichnet, dass die Bewegung der Zylinderlinse (3; 3,  
3') eine hochfrequente Bewegung ist.
- 20      8.      Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 7,  
dadurch gekennzeichnet, dass Streulicht oder Fluoreszenzlicht einer  
oder mehrerer Wellenlängen verwendet wird.
- 25      9.      Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 8,  
dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtquelle (1; 1, 1') eine Lampe  
oder ein Laser ist, die Licht einer oder mehrerer Wellenlängen zur  
Verfügung stellen.
- 30      10.      Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 9,  
dadurch gekennzeichnet, dass das Objekt (4) durch eine Halterung  
(12) in einer Probenkammer (13) zu halten ist und darin um eine im

- 24 -

Wesentlichen einer Schwerkraftrichtung entsprechende Achse (14) drehbar und entlang mindestens einer Richtung bewegbar ist.

- 5 11. Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 10,  
dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens zwei Beleuchtungsstrahlengänge (2, 2') mit im Wesentlichen entgegengesetzter Beleuchtungsrichtung vorgesehen sind zur Erzeugung sich wenigstens bereichsweise überlappender flächenartiger Objektbeleuchtungs-  
bereiche (20).
- 10 12. Mikroskop nach Anspruch 11,  
dadurch gekennzeichnet, dass das Beleuchtungslicht der beiden Beleuchtungsstrahlengänge (2, 2') in Richtung der Beleuchtungs-  
achse im Bereich des flächenartigen Objektbeleuchtungsbereichs  
15 (20) wenigstens bereichsweise interferiert.
13. Mikroskop nach Anspruch 12,  
dadurch gekennzeichnet, dass das Beleuchtungslicht der beiden  
Beleuchtungsstrahlengänge (2, 2') eine konstante, einstellbare Phase  
20 aufweist.
14. Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 13,  
dadurch gekennzeichnet, dass der wenigstens eine Detektionsstrahlengang (5) einen Detektor aufweist und dass der Detektor seitlich  
25 bezüglich der Detektionsrichtung des wenigstens einen Detektionsstrahlengangs (5) bewegbar ist.
15. Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 14,  
dadurch gekennzeichnet, dass der wenigstens eine Detektionsstrahlengang (5; 5') derart anpassbar ist, dass die Detektionsrichtung bei  
30 Verlagerung des Objektbeleuchtungsbereichs (20) näherungsweise

- 25 -

orthogonal zu dem flächenartigen Objektbeleuchtungsbereich (20) liegt.

5 16. Mikroskop mit wenigstens einem Beleuchtungsstrahlengang (2) und wenigstens einem Detektionsstrahlengang (5),  
dadurch gekennzeichnet,

- 10 - dass bei jedem Beleuchtungsstrahlengang (2) eine Fokussieranordnung (3) vorgesehen ist zur Erzeugung eines in Richtung einer Beleuchtungsachse des Beleuchtungsstrahlengangs (2) ausgedehnten linienartigen Objektbeleuchtungsbereichs (20'),
- dass eine Detektionsrichtung (10) des wenigstens einen Detektionsstrahlengangs (5) näherungsweise orthogonal zu dem linienartigen Objektbeleuchtungsbereich (20') steht, und
- 15 - dass wenigstens eine Bewegungsanordnung (24, 26, 28) vorgesehen ist zur Erzeugung einer Relativbewegung zwischen dem linienartigen Objektbeleuchtungsbereich (20') und einem zu untersuchenden Objekt (4).

20 17. Mikroskop nach Anspruch 16,  
dadurch gekennzeichnet, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung (24, 26, 28) dazu ausgebildet ist, eine Relativbewegung zwischen dem Objekt (4) und dem linienartigen Objektbeleuchtungsbereich (20') im Wesentlichen orthogonal zur Beleuchtungsachse und zur Detektionsrichtung (10) zu erzeugen.

25 18. Mikroskop nach Anspruch 17,  
dadurch gekennzeichnet, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung dazu ausgebildet ist, das Objekt (4) zur Erzeugung einer Relativbewegung zu bewegen.

30 19. Mikroskop nach Anspruch 17 oder 18,

- 26 -

dadurch gekennzeichnet, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung (24, 26, 28) dazu ausgebildet ist, den wenigstens einen Beleuchtungsstrahlengang (2) wenigstens in dem durch diesen bereitgestellten linienartigen Objektbeleuchtungsbereich (20') zur Erzeugung der Relativbewegung zu bewegen.

5

20. Mikroskop nach Anspruch 19,

dadurch gekennzeichnet, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung (24, 26, 28) dazu ausgebildet ist, den wenigstens einen Detektionsstrahlengang (5) in Anpassung an die Bewegung des wenigstens einen Beleuchtungsstrahlengangs (2) wenigstens in seinem objektnahen Bereich zu bewegen.

10

21. Mikroskop nach einem der Ansprüche 16 bis 20,

dadurch gekennzeichnet, dass der wenigstens eine Detektionsstrahlengang (5) einen Detektor (8) mit einer Vielzahl an Detektorpixeln aufweist.

15

22. Mikroskop nach Anspruch 21,

dadurch gekennzeichnet, dass die Anzahl und die Positionierung der Detektorpixel des Detektors (8) derart gewählt sind, dass der wenigstens eine Detektionsstrahlengang (5) einen durch den wenigstens einen Beleuchtungsstrahlengang (2) im Objektbeleuchtungsbereich (20') beleuchteten Abschnitt des Objekts (4) im Wesentlichen vollständig auf den Detektor (8) abbildet.

20

25

23. Mikroskop nach einem der Ansprüche 16 bis 22,

dadurch gekennzeichnet, dass die wenigstens eine Bewegungsanordnung dazu ausgebildet ist, das zu untersuchende Objekt im Wesentlichen in Richtung der Detektionsrichtung (10) des wenigstens einen Detektionsstrahlengangs (5) zu bewegen.

30

- 27 -

24. Mikroskop mit wenigstens einem Beleuchtungsstrahlengang (2; 2, 2') und wenigstens einem Detektionsstrahlengang (5),  
dadurch gekennzeichnet,

5

- dass bei jedem Beleuchtungsstrahlengang (2; 2, 2') eine Fokussieranordnung (3; 3, 3') vorgesehen ist zur Erzeugung eines in Richtung einer Beleuchtungsachse des Beleuchtungsstrahlengangs (2; 2, 2') ausgedehnten Objektbeleuchtungsbereichs (20; 20'),

10

- dass eine Detektionseinrichtung (10) des wenigstens einen Detektionsstrahlengangs (5) näherungsweise orthogonal zu dem Objektbeleuchtungsbereich (20; 20') steht, und
- dass eine Bewegungsanordnung vorgesehen ist zur Erzeugung einer Relativbewegung zwischen dem Objektbeleuchtungsbereich (20; 20') und einem zu untersuchenden Objekt (4).

Fig. 1

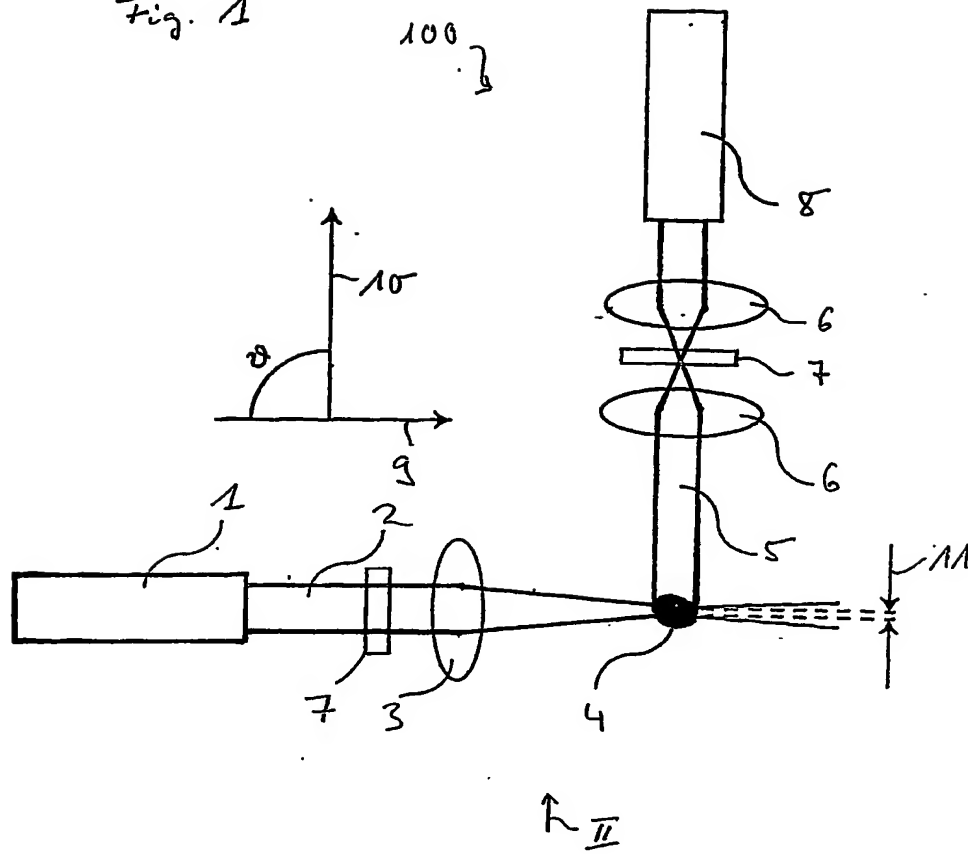
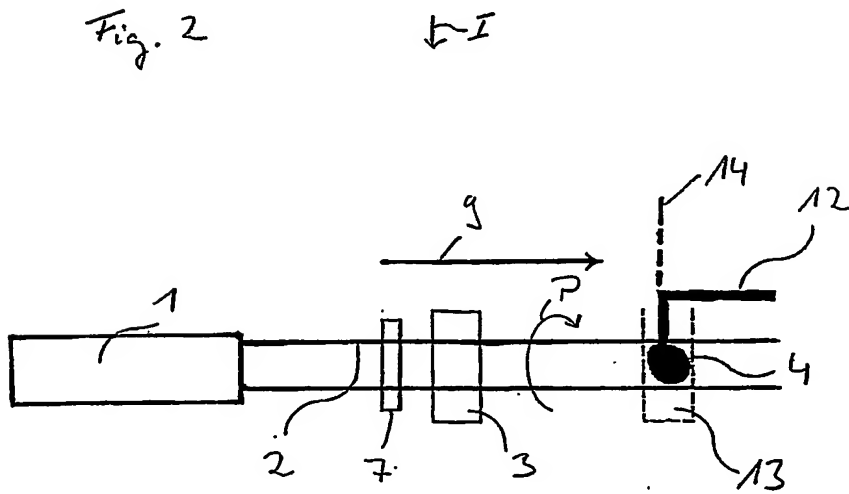


Fig. 2



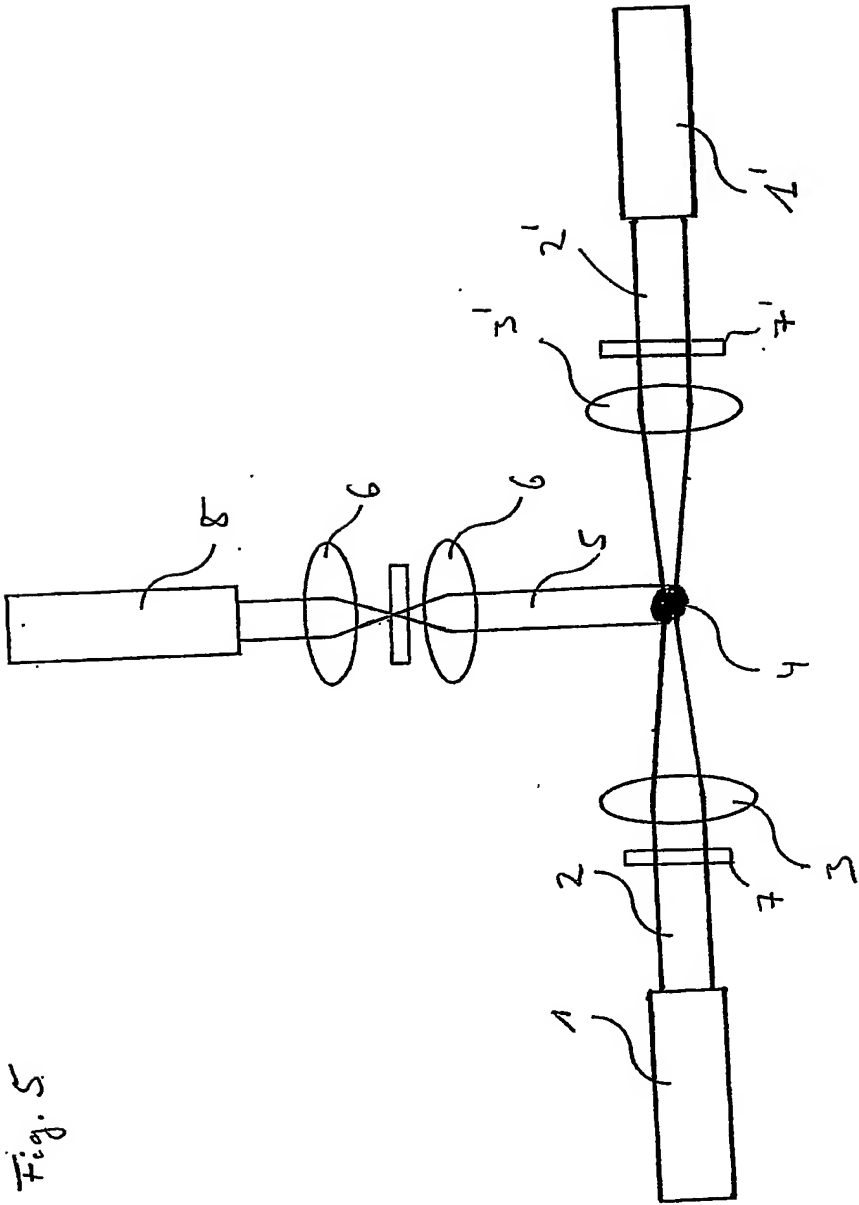


Fig. 5

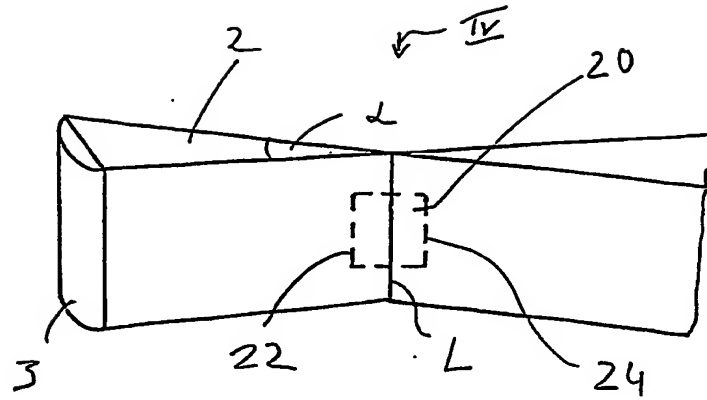


Fig. 3

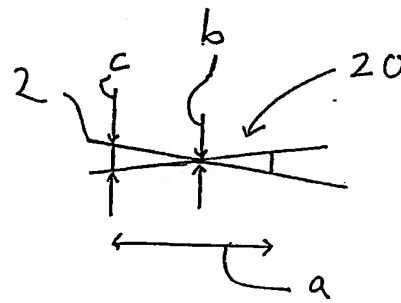


Fig. 4

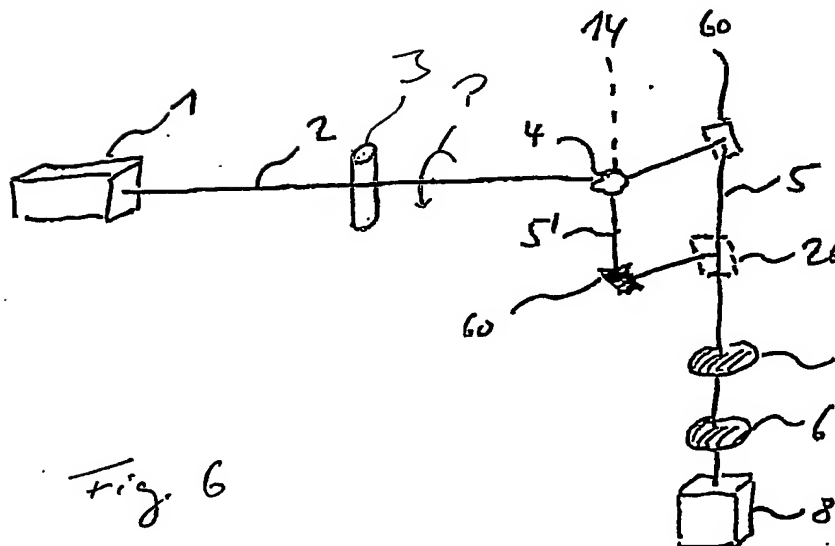


Fig. 6



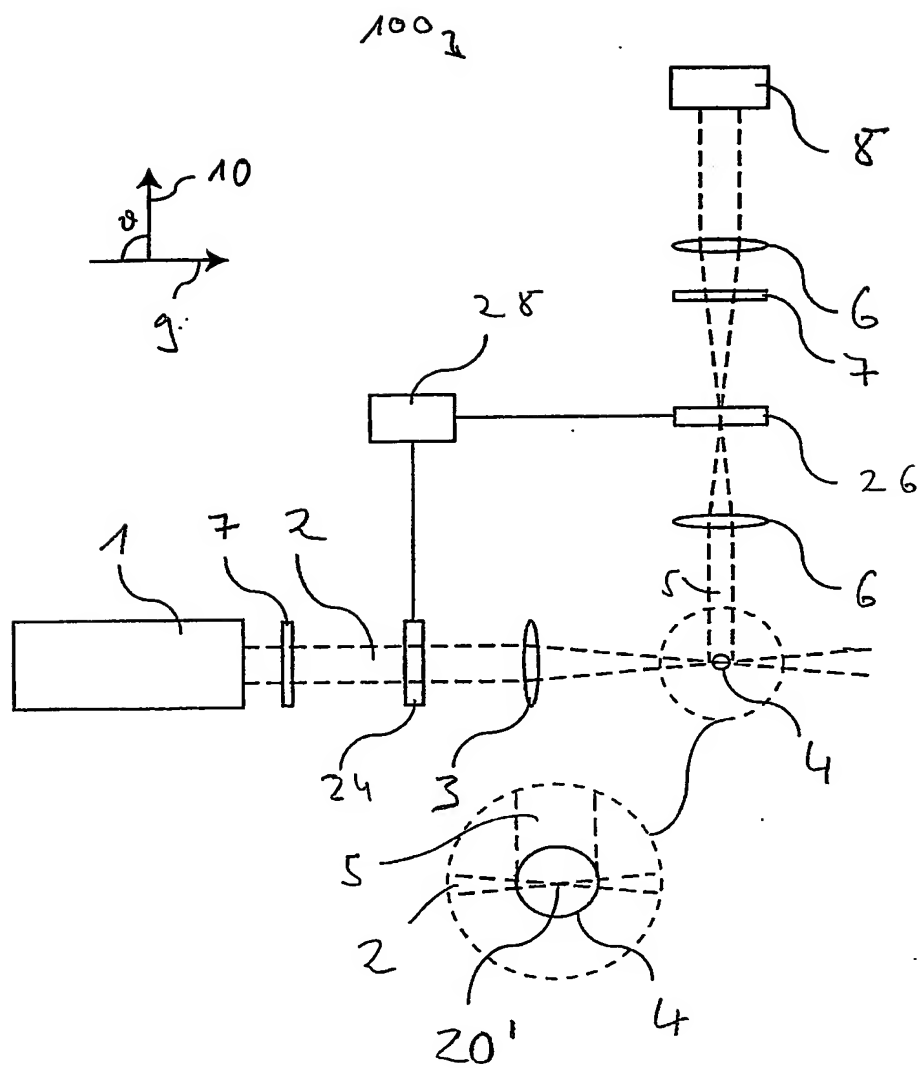


Fig. 7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No  
PCT/EP 03/05991

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 G02B21/00 G02B21/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 570 228 A (GREENBERG GARY) 29 October 1996 (1996-10-29)	16-19, 24
A	column 3, line 18 - column 5, line 59; figure 2	1
	column 7, line 9 - column 8, line 54 column 9, line 14 - line 67	
Y	FUCHS E ET AL: "THIN LASER LIGHT SHEET MICROSCOPE FOR MICROBIAL OCEANOGRAPHY" OPTICS EXPRESS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC,, US, vol. 10, no. 2, 28 January 2002 (2002-01-28), pages 145-154, XP001157856 ISSN: 1094-4087 cited in the application page 148 -page 149; figure 1	1-6, 8, 9, 11, 15

---  
-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the International filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

27 November 2003

Date of mailing of the International search report

04/12/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Andreassen, J

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No  
PCT/EP 03/05991

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5 903 781 A (HUBER DANIEL) 11 May 1999 (1999-05-11) cited in the application column 3, line 10 -column 6, line 51; figures 1,4,5	1-6,8,9, 11,15
A	US 4 852 985 A (FUJIHARA TADAFUMI ET AL) 1 August 1989 (1989-08-01) column 1, line 29 - line 68; figure 11 column 4, line 65 -column 5, line 32	1,16,24

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In Application No  
PCT/EP 03/05991

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5570228	A	29-10-1996	US 5345333 A	06-09-1994
			AU 5603594 A	08-06-1994
			WO 9411769 A1	26-05-1994
			AU 650985 B2	07-07-1994
			AU 1915792 A	17-11-1992
			CA 2084408 A1	20-10-1992
			DE 535218 T1	14-10-1993
			EP 0535218 A1	07-04-1993
			ES 2041229 T1	16-11-1993
			JP 5119266 A	18-05-1993
			JP 2001201693 A	27-07-2001
			KR 270979 B1	01-11-2000
			US 5548441 A	20-08-1996
			WO 9218894 A1	29-10-1992
			US 5867312 A	02-02-1999
			US 5305139 A	19-04-1994
			US 5592328 A	07-01-1997
US 5903781	A	11-05-1999	DE 19720513 A1	19-11-1998
			JP 10339919 A	22-12-1998
US 4852985	A	01-08-1989	JP 2092134 C	18-09-1996
			JP 7122694 B	25-12-1995
			JP 63098619 A	30-04-1988
			DE 3734691 A1	28-04-1988

# INTERNATIONALES RESEARCHENBERICHT

In  Aktenzeichen

PCT/EP 03/05991

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 G02B21/00 G02B21/06

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RESEARCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 G02B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 570 228 A (GREENBERG GARY) 29. Oktober 1996 (1996-10-29)	16-19, 24
A	Spalte 3, Zeile 18 - Spalte 5, Zeile 59; Abbildung 2	1
Y	Spalte 7, Zeile 9 - Spalte 8, Zeile 54 Spalte 9, Zeile 14 - Zeile 67	
Y	FUCHS E ET AL: "THIN LASER LIGHT SHEET MICROSCOPE FOR MICROBIAL OCEANOGRAPHY" OPTICS EXPRESS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC., US, Bd. 10, Nr. 2, 28. Januar 2002 (2002-01-28), Seiten 145-154, XP001157856 ISSN: 1094-4087 in der Anmeldung erwähnt Seite 148 - Seite 149; Abbildung 1	1-6, 8, 9, 11, 15
	--- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

27. November 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

04/12/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Andreassen, J

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Ir Aktenzeichen  
PCT/EP 03/05991

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 5 903 781 A (HUBER DANIEL) 11. Mai 1999 (1999-05-11) in der Anmeldung erwähnt Spalte 3, Zeile 10 -Spalte 6, Zeile 51; Abbildungen 1,4,5	1-6,8,9, 11,15
A	US 4 852 985 A (FUJIHARA TADAFUMI ET AL) 1. August 1989 (1989-08-01) Spalte 1, Zeile 29 - Zeile 68; Abbildung 11 Spalte 4, Zeile 65 -Spalte 5, Zeile 32	1,16,24

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die derselben Patentfamilie gehören

In Aktenzeichen

PCT/EP 03/05991

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5570228	A	29-10-1996	US 5345333 A	06-09-1994
			AU 5603594 A	08-06-1994
			WO 9411769 A1	26-05-1994
			AU 650985 B2	07-07-1994
			AU 1915792 A	17-11-1992
			CA 2084408 A1	20-10-1992
			DE 535218 T1	14-10-1993
			EP 0535218 A1	07-04-1993
			ES 2041229 T1	16-11-1993
			JP 5119266 A	18-05-1993
			JP 2001201693 A	27-07-2001
			KR 270979 B1	01-11-2000
			US 5548441 A	20-08-1996
			WO 9218894 A1	29-10-1992
			US 5867312 A	02-02-1999
			US 5305139 A	19-04-1994
			US 5592328 A	07-01-1997
US 5903781	A	11-05-1999	DE 19720513 A1	19-11-1998
			JP 10339919 A	22-12-1998
US 4852985	A	01-08-1989	JP 2092134 C	18-09-1996
			JP 7122694 B	25-12-1995
			JP 63098619 A	30-04-1988
			DE 3734691 A1	28-04-1988

**Feld Nr. VIII (iv) ERKLÄRUNG: ERFINDERERKLÄRUNG (nur im Hinblick auf die Bestimmung der Vereinigten Staaten von Amerika)**

*Die Erklärung muß dem in Abschnitt 214 vorgeschriebenen Wortlaut entsprechen; siehe Anmerkungen zu den Feldern VIII, VIII (i) bis (v) (allgemein) und insbesondere die Anmerkungen zum Feld Nr. VIII (iv). Wird dieses Feld nicht benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.*

**Erfindererklärung (Regeln 4.17 Ziffer iv und 51bis.1 Absatz a Ziffer iv)  
im Hinblick auf die Bestimmung der Vereinigten Staaten von Amerika:**

Ich erkläre hiermit an Eides Statt, daß ich nach bestem Wissen der ursprüngliche, erste und alleinige Erfinder (falls nachstehend nur ein Erfinder angegeben ist) oder Miterfinder (falls nachstehend mehr als ein Erfinder angegeben ist) des beanspruchten Gegenstandes bin, für den ein Patent beantragt wird.

Diese Erklärung wird im Hinblick auf und als Teil dieser internationalen Anmeldung abgegeben (falls die Erklärung zusammen mit der Anmeldung eingereicht wird).

Diese Erklärung wird im Hinblick auf die internationale Anmeldung Nr. PCT/.EP..03/.05991..... abgegeben (falls diese Erklärung nach Regel 26ter eingereicht wird).

Ich erkläre hiermit an Eides Statt, daß mein Wohnsitz, meine Postanschrift und meine Staatsangehörigkeit den neben meinem Namen aufgeführten Angaben entsprechen.

Ich bestätige hiermit, daß ich den Inhalt der oben angegebenen internationalen Anmeldung, einschließlich ihrer Ansprüche, durchgesehen und verstanden habe. Ich habe im Antragsformular dieser internationalen Anmeldung gemäß PCT Regel 4.10 sämtliche Auslandsanmeldungen angegeben und habe nachstehend unter der Überschrift "Frühere Anmeldungen", unter Angabe des Aktenzeichens, des Staates oder Mitglieds der Welthandelsorganisation, des Tages, Monats und Jahres der Anmeldung, sämtliche Anmeldungen für ein Patent bzw. eine Erfinderrkunde in einem anderen Staat als den Vereinigten Staaten von Amerika angegeben, einschließlich aller internationalen PCT-Anmeldungen, die wenigstens ein anderes Land als die Vereinigten Staaten von Amerika bestimmen, deren Anmeldetag dem der Anmeldung, deren Priorität beansprucht wird, vorangeht.

Frühere Anmeldungen: DE 102 57 423.5 vom 09.12.2002.....

Ich erkenne hiermit meine Pflicht zur Offenbarung jeglicher Informationen an, die nach meinem Wissen zur Prüfung der Patentfähigkeit in Einklang mit Title 37, Code of Federal Regulations, § 1.56 von Belang sind, einschließlich, im Hinblick auf Teilfortsetzungsanmeldungen, Informationen, die im Zeitraum zwischen dem Anmeldetag der früheren Patentanmeldung und dem internationalen PCT-Anmeldedatum der Teilfortsetzungsanmeldung bekannt geworden sind.

Ich erkläre hiermit, daß alle in der vorliegenden Erklärung von mir gemachten Angaben nach bestem Wissen und Gewissen der Wahrheit entsprechen, und ferner, daß ich diese eidesstattliche Erklärung in Kenntnis dessen ablege, daß wissentlich und vorsätzlich falsche Angaben oder dergleichen gemäß § 1001, Title 18 des US-Codes strafbar sind und mit Geldstrafe und/oder Gefängnis bestraft werden können und daß derartige wissentlich und vorsätzlich falsche Angaben die Rechtswirksamkeit der vorliegenden Patentanmeldung oder eines aufgrund deren erteilten Patentes gefährden können.

Name: Stelzer Ernst H. K. ....

Wohnsitz: Meckesheim, Deutschland  
(Stadt und US-Staat, falls anwendbar, sonst Land) .....

Postanschrift: Eschelbronnerstr. 79, 74909 Meckesheim, Deutschland .....

Staatsangehörigkeit: ☒ *Deutsch* .....

Unterschrift des Erfinders: ☒ *[Signature]* ..... Datum: ☒ *21. Mai 2003* .....  
(falls nicht bereits das Antragsformular unterschrieben wird oder falls die Erklärung nach Einreichung der internationalen Anmeldung nach Regel 26ter berichtigt oder hinzugefügt wird. Die Unterschrift muß die des Erfinders sein, nicht die des Anwalts) (der Unterschrift, falls das Antragsformular nicht unterschrieben wird oder der Erklärung, die nach Regel 26ter nach Einreichung der internationalen Anmeldung berichtigt oder hinzugefügt wird)

Name: Enders Sebastian .....

Wohnsitz: Heidelberg, Deutschland  
(Stadt und US-Staat, falls anwendbar, sonst Land) .....

Postanschrift: Fritz-Frey-Str. 8, 69124 Heidelberg, Deutschland .....

Staatsangehörigkeit: ..... ☐ .....

Unterschrift des Erfinders: ..... Datum: .....  
(falls nicht bereits das Antragsformular unterschrieben wird oder falls die Erklärung nach Einreichung der internationalen Anmeldung nach Regel 26ter berichtigt oder hinzugefügt wird. Die Unterschrift muß die des Erfinders sein, nicht die des Anwalts) (der Unterschrift, falls das Antragsformular nicht unterschrieben wird oder der Erklärung, die nach Regel 26ter nach Einreichung der internationalen Anmeldung berichtigt oder hinzugefügt wird)

☒ Diese Erklärung wird auf dem folgenden Blatt fortgeführt, "Fortsetzungsblatt für Feld Nr. VIII (iv)".